

Trong các sắc ký đồ thu được, pic tương ứng với acid acetic có thời gian lưu khoảng 3 min đến 4 min. Đường nền có thể cao dần do hiện tượng rửa giải peptid. Xác định hàm lượng acid acetic trong peptid dựa vào diện tích pic acid acetic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

10.19 ĐỐT TRONG OXYGEN

Thiết bị

Nếu không có những quy định khác trong chuyên luận riêng, bình đốt là một bình nón bằng thủy tinh borosilicat dung tích ít nhất là 500 ml, nút thủy tinh mài có gắn một bộ phận mang mẫu thích hợp bằng platin hoặc bằng platin - iridi.

Phương pháp

Nghiền nhỏ mẫu thử. Đặt một lượng mẫu theo quy định vào giữa một mảnh giấy lọc không tro, kích thước 40 mm x 30 mm, có một dải nhỏ kích thước 10 mm x 30 mm. Nếu giấy lọc được quy định tẩm bằng lithi carbonat thì làm ẩm vùng giữa giấy lọc bằng dung dịch bão hòa lithi carbonat (TT) rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trước khi dùng. Gói mẫu thử vào trong giấy và cài vào bộ phận mang mẫu.

Thêm nước hoặc dung dịch hấp thụ như chỉ dẫn vào trong bình. Bơm khí oxygen vào bình qua một ống mà đầu cuối của nó đặt ở phía trên với khoảng cách vừa đủ so với mặt thoáng của chất lỏng hấp thụ. Làm ẩm cổ bình bằng nước. Nạp đầy khí oxygen vào bình. Đốt đầu tự do của dải giấy lọc hẹp bằng một dụng cụ thích hợp và cẩn thận đẩy ngay nút bình lại. Giữ chắc nút. Khi bắt đầu cháy mạnh, lật ngược bình để tạo ra một lớp ngăn cách bằng nước nhưng cần chú ý ngăn không cho những sản phẩm cháy chưa hoàn toàn rơi xuống chất lỏng. Ngay sau khi đốt cháy xong, lắc bình thật mạnh để hòa tan hoàn toàn những sản phẩm đốt. Làm lạnh. Nếu không có những chỉ dẫn khác, sau khoảng 5 min, cẩn thận tháo nút ra. Rửa nút, dây, lưới platin và thành bình bằng nước rồi tiến hành tiếp như quy định trong chuyên luận riêng.

Đối với mẫu thử là chất lỏng, cho một lượng mẫu thử vào nang làm bằng methylcellulose có cỡ thích hợp đã có chứa sẵn khoảng 15 mg bột giấy lọc không tro. Đậy nắp nang, kẹp đầu cuối của dải giấy lọc hẹp vào giữa 2 phần thân và nắp. Buộc nang vào lưới platin.

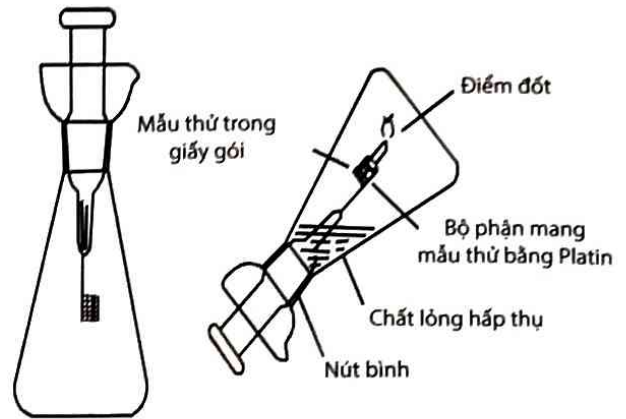
Đối với mẫu thử là thuốc mỡ, cần phải bọc trong tờ giấy không thấm mỡ trước khi bọc trong giấy lọc.

Áp dụng cho những chế phẩm chứa iod

Đốt một lượng quy định mẫu thử bằng phương pháp đã mô tả ở trên, sử dụng chất lỏng hấp thụ là hỗn hợp 10 ml nước và 2 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Khi quá trình đốt đã hoàn thành, thêm vào bình một lượng thừa dung dịch brom trong acid acetic (TT) (khoảng 5 ml đến 10 ml) và để yên trong 2 min. Loại brom thừa bằng cách thêm acid formic (TT) (0,5 ml đến 1 ml). Rửa thành bình với nước cất. Đuổi hơi brom ở trên lớp chất lỏng bằng

một luồng khí động. Thêm 1 g kali iodid (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CD), dùng chỉ thị là dung dịch hồ tinh bột (TT) thêm vào lúc cuối của quá trình chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CD) tương đương với 0,4230 mg iod.



Hình 10.19 - Dụng cụ đốt trong oxygen

10.20 XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT BẢO QUẢN KHÁNG KHUẨN

Một thành phần quan trọng của các chế phẩm thuốc tiêm đa liều là các chất làm giảm nguy cơ xâm nhập của vi khuẩn vào phần còn lại sau khi đã dùng một phần chế phẩm. Các chất này thuộc nhóm chất bảo quản kháng khuẩn. Tên và hàm lượng các chất bảo quản kháng khuẩn phải ghi trên nhãn thuốc. Các phương pháp phân tích sau đây áp dụng cho một số chất bảo quản kháng khuẩn thông dụng nhất, nhằm xác định sự có mặt của chất bảo quản với hàm lượng không vượt quá 20 % lượng ghi trên nhãn.

Nồng độ chất bảo quản kháng khuẩn được thêm vào thuốc tiêm đa liều hay đơn liều, thuốc nhỏ tai, nhỏ mũi hay nhỏ mắt có thể bị giảm đi trong thời hạn dùng của sản phẩm. Vì thế, nhà sản xuất cần xác định nồng độ tối thiểu còn tác dụng và công thức sản xuất phải được nghiên cứu sao cho nồng độ chất bảo quản kháng khuẩn luôn cao hơn mức nồng độ tối thiểu trong suốt thời hạn sử dụng. Tại thời điểm sản xuất, sản phẩm chứa lượng chất bảo quản kháng khuẩn được công bố (trong phạm vi ± 20 % dao động cho phép trong sản xuất và kiểm nghiệm). Lượng chất bảo quản kháng khuẩn được công bố trên nhãn không có nghĩa là lượng này được giữ nguyên trong thời hạn sử dụng, mà chỉ là sự khẳng định về hàm lượng được thêm vào nằm trong giới hạn của quy trình sản xuất và không vượt quá 20 %. Cách ghi hàm lượng chất bảo quản sẽ là một trị số tiếp theo là đơn vị đo, ví dụ 0,015 mg/ml hay 0,1 %.

Các chất kháng khuẩn thông dụng nhất là benzyl alcol, clorobutanol, phenol; 4 ester đồng đẳng của acid p-hydroxybenzoic (methyl, ethyl, propyl và butyl parabens); 2 hợp chất cơ kim thủy ngân (phenylmercuric nitrat và thimerosal). Xác định phenylmercuric nitrat dùng phương pháp cực phổ, xác định thimerosal và 4 ester đồng đẳng

của acid p-hydroxybenzoic dùng phương pháp sắc ký lỏng và xác định benzyl alcol, clorobutanol, phenol dùng phương pháp sắc ký khí.

Phương pháp sắc ký khí

Quy trình chung về phương pháp sắc ký khí trình bày dưới đây có thể áp dụng để định lượng benzyl alcol, clorobutanol, phenol. Chuẩn bị dung dịch chuẩn nội và dung dịch chuẩn cho mỗi chất bảo quản kháng khuẩn theo hướng dẫn dưới đây. Trừ khi có hướng dẫn khác trong chuyên luận riêng, chuẩn bị dung dịch thử từ một lượng chính xác mẫu thử và dung dịch chuẩn nội sao cho nồng độ của chất bảo quản kháng khuẩn cần phân tích và thành phần của dung môi trong dung dịch thử tương đương trong dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký khí theo các điều kiện được trình bày trong phần này.

Benzyl alcol

Dung môi pha loãng: Methanol - nước (20 : 80).

Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch chứa 3,8 mg/ml phenol được chuẩn bị như sau: Hòa tan một lượng phenol (TT) thích hợp trong một thể tích methanol (TT) bằng 10 % thể tích bình định mức và pha loãng bằng nước đến vạch.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 1,8 mg/ml benzyl alcol chuẩn và 1,5 mg/ml phenol (TT) được chuẩn bị như sau: Hòa tan 180 mg benzyl alcol chuẩn trong 20 ml methanol (TT) trong bình định mức 100 ml. Thêm 40,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng bằng nước đến vạch.

Dung dịch thử: Pha loãng mẫu thử và sử dụng một lượng dung dịch chuẩn nội phù hợp để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1,8 mg/ml benzyl alcol và 1,5 mg/ml phenol trong hỗn hợp dung môi methanol - nước (24 : 76).

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) được phủ pha tinh polyethylen glycol (phân tử lượng khoảng 15.000) (ví dụ như polyethylen glycol compound 20 M hoặc carbowax 20 M) (lớp phim dày 0,5 µm).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký.

Tỷ lệ chia dòng: 10 : 1.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 5	150
	5 - 13	150 → 230
	13 - 20	(tăng 10 °C/min)
		230
Buồng tiêm		200
Detector		310

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1,0 µl.

Thời gian chạy sắc ký: 20 min.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối so với benzyl alcol của phenol khoảng 1,25.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic benzyl alcol và pic phenol không nhỏ hơn 2,0; hệ số đối xứng của pic benzyl alcol không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của tỷ lệ diện tích pic benzyl alcol và pic phenol thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tính hàm lượng benzyl alcol, C₇H₈O, trong chế phẩm dựa vào tỷ lệ diện tích pic benzyl alcol và pic phenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ benzyl alcol chuẩn trong dung dịch chuẩn.

Clorobutanol

Dung môi pha loãng: Methanol - nước (50 : 50).

Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch chứa 10 mg/ml 2,2,2-tricloroethanol trong dung môi pha loãng.

Dung dịch chuẩn gốc: Dung dịch chứa 5 mg/ml clorobutanol chuẩn trong methanol (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 1,25 mg/ml clorobutanol chuẩn và 2 mg/ml 2,2,2-tricloroethanol được chuẩn bị như sau: Lấy 2,5 ml dung dịch chuẩn gốc, 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và 0,5 ml methanol (TT) vào bình định mức 10 ml và pha loãng bằng nước đến vạch.

Dung dịch thử gốc: Pha loãng chính xác một thể tích dung dịch thử, nếu cần, để thu được dung dịch chứa 2,5 mg/ml clorobutanol trong nước.

Dung dịch thử: Lấy 5,0 ml dung dịch thử gốc và 2,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức 10 ml và thêm methanol (TT) đến vạch.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) được phủ pha tinh polyethylen glycol (phân tử lượng khoảng 15.000) (ví dụ như polyethylen glycol compound 20 M hoặc carbowax 20 M) (lớp phim dày 0,25 µm).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký.

Tỷ lệ chia dòng: 10 : 1.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Nhiệt độ: Buồng tiêm 260 °C; detector 280 °C; cột 135 °C.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 0,5 µl.

Thời gian chạy sắc ký: 12 min.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối so với clorobutanol của 2,2,2-tricloroethanol khoảng 1,4.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic clorobutanol và pic 2,2,2-tricloroethanol không nhỏ hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của tỷ lệ diện tích pic clorobutanol và pic 2,2,2-tricloroethanol thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.

Tính hàm lượng clorobutanol, C₄H₇Cl₃O, trong chế phẩm dựa vào tỷ lệ diện tích pic clorobutanol và pic 2,2,2-tricloroethanol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ clorobutanol chuẩn trong dung dịch chuẩn.

Phenol

Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch chứa 2 mg/ml benzyl alcol chuẩn trong *methanol* (TT).

Dung dịch chuẩn gốc: Dung dịch chứa 4 mg/ml phenol chuẩn trong nước.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,4 mg/ml phenol chuẩn và 0,4 mg/ml benzyl alcol chuẩn được chuẩn bị như sau: Lấy 5,0 ml dung dịch chuẩn gốc và 10,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức 50 ml và pha loãng bằng nước đến vạch.

Dung dịch thử: Pha loãng mẫu thử và sử dụng một lượng dung dịch chuẩn nội phù hợp để thu được dung dịch có nồng độ 0,4 mg/ml phenol và 0,4 mg/ml benzyl alcol trong hỗn hợp *methanol* - nước (20 : 80)

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) được phủ pha tinh *polyethylen glycol* (phân tử lượng khoảng 15.000) (ví dụ như *polyethylen glycol compound 20 M* hoặc *carbowax 20 M*) (lớp phim dày 0,5 μm).

Khí mang: *Heli* dùng cho sắc ký.

Ỗ lệ chia dòng: 10 : 1.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 5	150
	5 - 13	150 → 230
	13 - 20	(tăng 10 °C/min) 230
Buồng tiêm		200
Detector		310

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 μl.

Thời gian chạy sắc ký: 20 min.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối so với phenol của benzyl alcol khoảng 0,85.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic benzyl alcol với pic phenol không nhỏ hơn 2,0; hệ số đối xứng của pic phenol không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của tỷ lệ diện tích pic phenol và pic benzyl alcol thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.

Tính hàm lượng phenol, C₆H₆O, trong chế phẩm dựa vào tỷ lệ diện tích pic phenol và pic benzyl alcol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ phenol chuẩn trong dung dịch chuẩn.

Phương pháp sắc ký lỏng

Quy trình chung về phương pháp sắc ký lỏng trình bày dưới đây được áp dụng để định lượng các paraben và thimerosal. Chuẩn bị dung dịch chuẩn nội và dung dịch chuẩn cho mỗi chất bảo quản kháng khuẩn theo hướng dẫn dưới đây. Trừ khi có hướng dẫn khác trong chuyên luận

riêng, chuẩn bị dung dịch thử từ một lượng chính xác mẫu thử và dung dịch chuẩn nội sao cho nồng độ của chất bảo quản kháng khuẩn cần phân tích và thành phần dung môi trong dung dịch thử tương đương trong dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký lỏng theo các điều kiện được trình bày trong phần này.

Methylparaben và propylparaben

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - dung dịch kali dihydrophosphat 7 g/l (65 : 35).

Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch chứa 0,013 mg/ml ethylparaben chuẩn trong pha động.

Dung dịch phù hợp hệ thống: Dung dịch chứa 0,01 mg/ml mỗi chất sau: butylparaben chuẩn, propylparaben chuẩn, ethylparaben chuẩn, methylparaben chuẩn và acid *p*-hydroxybenzoic trong pha động.

Dung dịch chuẩn gốc: Dung dịch chứa 0,2 mg/ml methylparaben chuẩn và 0,03 mg/ml propylparaben chuẩn trong pha động.

Dung dịch chuẩn: Lấy 5 ml dung dịch chuẩn gốc, 5 ml dung dịch chuẩn nội vào bình chiết và tiến hành chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *diethyl ether* (TT). Gộp dịch chiết ether và làm khan bằng *natri sulfat khan* (TT). Bốc hơi dịch chiết đến khô và hòa tan cần thu được trong 50 ml pha động.

Dung dịch thử: Lấy 5 ml dung dịch cần thử, 5 ml dung dịch chuẩn nội vào bình chiết và tiến hành chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *diethyl ether* (TT). Gộp dịch chiết ether và làm khan bằng *natri sulfat khan* (TT). Bốc hơi dịch chiết đến khô và hòa tan cần thu được trong 50 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột bảo vệ (3mm × 4,0 mm) được nhồi pha tinh C.

Cột (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Thời gian chạy sắc ký: 10 min.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối so với methylparaben: acid *p*-hydroxybenzoic khoảng 0,58; ethylparaben khoảng 1,4 và propylparaben 2,1.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phù hợp hệ thống, độ phân giải giữa pic acid *p*-hydroxybenzoic và methylparaben không nhỏ hơn 2,0 và độ phân giải giữa pic methylparaben và ethylparaben không nhỏ hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của tỷ lệ diện tích pic methylparaben/ethylparaben và tỷ lệ diện tích pic propylparaben/ethylparaben thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %. Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic methylparaben và pic propylparaben không lớn hơn 2,0.

Tính hàm lượng của methylparaben, C₈H₈O₃, và propylparaben, C₁₀H₁₂O₃ trong chế phẩm lần lượt dựa vào tỷ lệ diện tích pic methylparaben/ethylparaben và

propylparaben/ethylparaben thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, hàm lượng tương ứng của $C_8H_8O_3$ và $C_{10}H_{12}O_3$ trong methylparaben chuẩn và propylparaben chuẩn.

Ethylparaben và butylparaben có thể được xác định theo cách tương tự với các dung dịch nội chuẩn thích hợp. Tuy nhiên, độ thu hồi của quá trình chiết xuất phụ thuộc vào chất nền, vì vậy cần xác định tính phù hợp của quy trình với từng sản phẩm cụ thể.

Thimerosal

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Acid trifluoroacetic - nước (0,5 : 1000).

Pha động: Methanol - dung dịch A (60 : 40).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 25 µg/ml thimerosal chuẩn trong nước.

Dung dịch thử: Pha loãng mẫu thử trong nước để thu được dung dịch có nồng độ thimerosal khoảng 25 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 2,1 mm) được nhồi pha tĩnh C (2 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 222 nm.

Tốc độ dòng: 0,35 ml/min.

Thể tích tiêm: 2,5 µl.

Nhiệt độ buồng tiêm mẫu tự động: 4 °C.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic thimerosal không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thimerosal thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.

Tính hàm lượng của thimerosal, $C_9H_9HgNaO_2S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thimerosal thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, hàm lượng của $C_9H_9HgNaO_2S$ trong thimerosal chuẩn.

Phương pháp cực phổ

Phenylmercuric nitrat

Dung dịch chuẩn gốc: Dung dịch chứa 0,1 mg/ml phenylmercuric nitrat trong dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT). Làm ấm để hòa tan nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Hút 10 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 25 ml rồi tiến hành như chỉ dẫn ở mục dung dịch thử bắt đầu từ “thêm 2 ml dung dịch kali nitrat 1 %....”.

Dung dịch thử: Hút 10 ml mẫu thử vào bình định mức 25 ml, thêm 2 ml dung dịch kali nitrat 1 % (TT) và 10 ml dung dịch đệm borat kiểm pH 9,2 (TT), nếu cần điều chỉnh đến pH 9,2 bằng dung dịch acid nitric 2 M (TT). Thêm 1,5 ml dung dịch gelatin (TT) 0,1 % mới pha, thêm dung dịch đệm borat kiểm pH 9,2 (TT) đến vạch, trộn đều.

Cách tiến hành:

Hút một phần dung dịch thử cho vào bình cực phổ, đuổi không khí trong dung dịch bằng dòng khí nitrogen thổi qua trong 15 min. Đặt điện cực giọt thủy ngân của máy cực phổ thích hợp và ghi lại cực phổ đồ trong khoảng điện thế từ -0,6 V đến -1,5 V so với điện cực calomel bão hòa. Xác

định cường độ dòng khuếch tán của dung dịch thử, $(i_d)_U$, là hiệu số giữa cường độ dòng tồn dư và cường độ dòng giới hạn.

Theo cách tương tự, xác định đồng thời cường độ dòng khuếch tán, $(i_d)_S$, của dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng phenylmercuric nitrat, $C_6H_5HgNO_3$, trong mẫu thử (µg/ml) theo công thức sau:

$$2,5 \times C \times \frac{(i_d)_U}{(i_d)_S}$$

Trong đó: C là nồng độ của phenylmercuric nitrat trong dung dịch chuẩn (µg/ml).

10.21 ĐỊNH LƯỢNG ACID OMEGA-3 TRONG DẦU CÁ

Dầu cá là sản phẩm có nguồn gốc từ các loài cá thuộc họ Cá trổng (*Engraulidae*), Cá khê (*Carangidae*), Cá trích (*Clupeidae*), Cá ớt me (*Osmeridae*), Cá Hồi (*Salmonidae*), Cá ngừ (*Scombridae*). Dầu cá có chứa acid omega-3. Acid omega-3 bao gồm acid alpha-linolenic (C18:3 n-3), acid moroctic (C18:4 n-3), acid eicosatetraenoic (C20:4 n-3), acid timnodonic (eicosapentaenoic) (C20:5 n-3; EPA), acid heneicosapentaenoic (C21:5 n-3), acid clupanodonic (C22:5 n-3) và acid cervonic (docosahexaenoic) (C22:6 n-3; DHA).

EPA và DHA

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Quá trình xử lý mẫu cần được tiến hành nhanh, tránh tiếp xúc với ánh sáng, các tác nhân oxy hóa, chất xúc tác quá trình oxy hóa (ví dụ: đồng, sắt) và không khí.

Phương pháp được áp dụng để phân tích dạng methyl hoặc ethyl ester của acid (all-Z)-eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoic (EPA; 20:5 n-3) và acid (all-Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoic (DHA; 22:6 n-3).

Chuẩn nội: Methyl tricosanoat (TT).

Dung dịch thử (a)

A. Áp dụng với chế phẩm chứa acid omega-3 ở dạng ethyl ester: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng trong Bảng 1 và khoảng 70,0 mg chuẩn nội bằng dung dịch butylhydroxytoluen (TT) 0,005 % trong trimethylpentan (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Có thể đun nóng nhẹ (tới 60 °C) để hòa tan chuẩn nội.

Bảng 1 - Khối lượng mẫu chế phẩm dùng thử nghiệm

Tổng hàm lượng EPA và DHA (%)	Khối lượng mẫu chế phẩm dùng thử nghiệm (g)
30 - 50	0,4 - 0,5
50 - 70	0,3
70 - 90	0,25

B. Áp dụng với chế phẩm chứa acid omega-3 ở dạng triglycerid: Lấy 2,0 ml dung dịch thu được ở phép thử A